Aus dem Physiologischen Institut der Freien Universität
Berlin (Direktor: Prof. Dr. med. Otto H. Gauer)

DIE DURCH PARASYMPATHIKOMIMETIKA PROVOZIERTE ANTIDIURETISCHE REAKTION DER WACHEN UND ALKOHOLNARKOTISIERTEN RATTE

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Fritz Niethard
aus Aurach

1970

Aus dem Physiologischen Institut der Freien Universität
Berlin (Direktor: Prof. Dr. med. Otto H. Gauer)

DIE DURCH PARASYMPATHIKOMIMETIKA PROVOZIERTE ANTIDIURETISCHE REAKTION DER WACHEN UND ALKOHOLNARKOTISIERTEN RATTE

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Fritz Niethard
aus Aurach

Dekan:	Prof. Dr. med. H. L a x
Referent:	Prof. Dr. med. F.J. H a b e r i c h
Korreferent:	Prof. Dr. med. H. H e r k e n

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 24. Juni 1970

Inhaltsverzeichnis

		Seit
1.	Einleitung	4
2.	Methode	6
3.	Kritik der Methodik	10
4.	Ergebnisse	13
4. 1.	Identifizierung von antidiuretischem Hormon	13
4. 1. 1	Typischer Verlauf	13
4. 1. 2	Dosisabhängigkeit	15
4. 1. 3	Hemmung der antidiuretischen Reaktion bei Alkoholnarkose	17
4. 1. 4	Ausbleiben der antidiuretischen Reaktion bei osmotischer Diurese	17
4. 1. 5	Refraktärität des Ausschüttungsmechanismus	18
4. 2.	Der Einfluß verschiedener Faktoren auf die provozierte antidiuretische Reaktion	19
4. 2. 1	Der Einfluß des Hydrierungszustandes und der Wasserbilanz	19
4. 2. 2	Der Einfluß der Alkoholnarkose auf die provozierte antidiuretische Reaktion	25
4. 2. 3	Der Einfluß der Urinelektrolyte und - osmolalität	29
5.	Diskussion	32
6.	Zusammenfassung	40
	Literaturverzeichnis	42

1. Einleitung

Das antidiuretische Hormon (ADH) steht im Rahmen der Regulierung des Wasserhaushaltes an hervorragender Stelle. Will man die physiologischen Wirkungsprinzipien des Hormons in bezug auf den Gesamtorganismus erfassen, so muß sich das Augenmerk auf zwei verschiedene Mechanismen richten:

1. die Hormonproduktion und -freisetzung im hypothalamohypophysären System, d.h. die Neurosekretion (BARGMANN 1949).
2. die Hormonelimination als Summe von Inaktivierungs- und Ausscheidungsvorgängen.

Durch die Synthese von Vasopressinen konnten verschiedene biologische Testverfahren auch zur quantitativen Hormonbestimmung erarbeitet werden. Durch diese Zufuhr von exogenem ADH konzentrierte sich das Interesse zunächst auf Probleme der Hormonelimination und Hormonwirksamkeit. GAUER und TATA (1966) definierten in diesem Zusammenhang an der alkoholnarkotisierten Ratte das "ADH-Wasseräquivalent" als Maß für die antidiuretische Wirksamkeit einer injizierten ADH-Zubereitung. Die Niere als Wirkungsort des antidiuretischen Hormons stellte sich in allen diesen Untersuchungen als besonders bedeutungsvoll für die Veränderung der ADH-Empfindlichkeit heraus.

Allerdings lassen einige Untersuchungen darauf schließen, daß auch das hypothalamohypophysäre System auf Grund seiner besonderen strukturellen Eigenschaften quantitativ und qualitativ auf den Wasserhaushalt einwirken kann. Umgekehrt sollen der Wasserhaushalt selbst bzw. seine Bestimmungsgrößen Rückwirkungen auf den neurosekretorischen Apparat haben. Demnach geht Dehydrierung des Versuchstieres mit einer beträchtlichen Verminderung der neurosekretorischen Granula in diesem System einher (EICHNER 1954). Diese Untersuchungen sind jedoch im wesentlichen an histologische Methoden gebunden und deswegen nur qualitativer Art. Darüber hinaus sind sie in ihrer Aussagefähigkeit umstritten (SACHS 1967).

Der seit PICKFORD (1939) bekannte cholinergische Mechanismus der ADH-Freisetzung in der Neurohypophyse war nun geeignet, neue methodische Wege zu bahnen. Mit Hilfe der Parasympathikomimetika gelingt es, stets den gleichen Stimulus für die endogene ADH-Freisetzung auszuüben. Unter diesen Bedingungen wurde in der vorliegenden Arbeit vor allem untersucht, ob verschiedene Hydrierungszustände die Ausschüttung und die Wirksamkeit von endogenem ADH beeinflussen können. Im folgenden kann dann ein Vergleich mit bekannten Ergebnissen nach Zufuhr von exogenem ADH vorgenommen werden. Dadurch ergibt sich die Möglichkeit, Veränderungen der Elimination von einer Beeinflussung des hypothalamohypophysären Systems durch den Hydrierungszustand abzugrenzen.

Da der cholinergische Mechanismus der ADH-Freisetzung in diesen Versuchen als Prämisse zu gelten hat, wurde dessen Gültigkeit erneut überprüft. Dieses geschah dadurch, daß die Resultate nach cholinergischem Stimulus ebenfalls mit bekannten Effekten nach exogener ADH-Zufuhr verglichen wurden.

2. Methode

Die vorliegenden Versuche werden an wachen sowie an alkoholnarkotisierten, weiblichen Sprague-Dawley-Ratten durchgeführt. Das Gewicht der Tiere liegt etwa zwischen 180 und 240 g. Mindestens zwei Tage vor Versuchsbeginn findet die Operation nach bewährter Methodik statt (AZIZ, HABERICH und NOWACKI, 1964). Für die Injektion der verwendeten Substanzen wird dafür ein Gefäßkatheter in die Vena cava inferior in Leberhöhe eingebunden. Die enterale Wasserzufuhr erfolgt über einen Duodenalkatheter. In einigen Fällen wird zusätzlich ein Aortenkatheter für die Druckregistrierung einoperiert.

Operation: Nach medianer Laparatomie werden die Gefäße jeweils auf kurzer Strecke freipräpariert und mit einem Luftknoten locker angeschlungen. Auf diese Weise kann das Gefäßlumen auch bei Erweiterung nicht stenosiert werden. Als Material für die Gefäßkatheter dienen gleich lange (20 cm) PVC-Schläuche (0,5x1,0 mm). Eine abgesägte Kanülenspitze (Injektionsnadel Record Nr. 12) wird dann in das proximale Ende der Schläuche eingeschoben und von einer PVC-Manschette gehalten. Die so vorbereiteten Katheter werden mit physiologischer Kochsalzlösung gefüllt, mit einem Kunststoffstopfen verschlossen, dann in das Gefäßlumen in Höhe des Luftknotens eingestochen und auf diesem hinter der Manschette angeknotet. Der Duodenalkatheter wird proximal des Pylorus nach Durchstechung der Magenwand eingeführt und bis in die pars descendens des Duodenum vorgeschoben. Er wird an einer Serosanaht ebenfalls mit Hilfe einer dem Katheter eng anliegenden Manschette befestigt. Alle Katheterenden führen beiderseits der Wirbelsäule auf dem Rücken der Tiere heraus. Durch ein Drahtgitter und einen Heftpflasterverband sind sie gut fixiert und vor der Zerstörung durch die Tiere selbst gesichert. Postoperativ erhalten die Tiere eine einmalige Gabe eines Breitspektrumantibiotikums.

Zwischen Operation und erstem Versuch liegen mindestens zwei bis maximal sechs Tage. Die Tiere werden im wohltemperierten Laborraum (21-24°C) gehalten und erhalten Wasser und eine standardisierte Volldiät (Fa. Altromin) ad libitum. Wirken Ratten an

mehreren Versuchsserien mit, so können sie sich in der Zwischenzeit jedesmal mindestens zwei Tage lang erholen.

Versuchsablauf: Vor Versuchsbeginn wird in einem kurzen Ätherrausch ein Blasenkatheter von konstanter Länge (25 cm) gelegt. Während des Versuchs selbst befinden sich die wachen Tiere in einer relativ engen Röhre aus Kunststoff. Die verwendeten Substanzen werden über den Cavakatheter injiziert. Ein photoelektrischer Tropfenzähler dient zur Diureseregistrierung, indem dieser den Impuls für einen Ordinatenschreiber an einem Rußkymographion gibt. Die Rückstellung des Ordinatenschreibers ist auf 1-Minuten-Periodik eingestellt, so daß bei bekannter Tropfengröße die pro Zeiteinheit ausgeschiedene Urinmenge berechnet werden kann.

Die vereinzelten Druckmessungen in der Aorta werden mit einem Statham-Element vorgenommen. Hierfür werden die Ratten mit 0.05 ml einer 1 : 10 verdünnten Liqueminlösung® heparinisiert (ungefähr 20 E). Die Druckregistrierung erfolgt nach zwischengeschalteter Verstärkung (Sanborn Trägerfrequenzverstärker Typ 350-1100 C) auf einem Direktschreiber (Fa. Schwarzer). Der Papiervorschub wird zu o.35 mm/sec gewählt.

Etwa eine Stunde nach Abklingen des Ätherrausches erhalten die Tiere über den Duodenalkatheter eine fortlaufende Infusion von Leitungswasser (4.5 ; 6.0 ; 9.0 ; und 12.0 ml/h), um verschiedene Ausgangsdiuresen zu erzielen. In der Versuchsreihe der alkoholnarkotisierten Tiere werden jeweils 9.0 ml einer 5 %igen Äthylalkohollösung ebenfalls intraduodenal infundiert. Abb. 1 zeigt ein Schema der gesamten Versuchsanordnung.

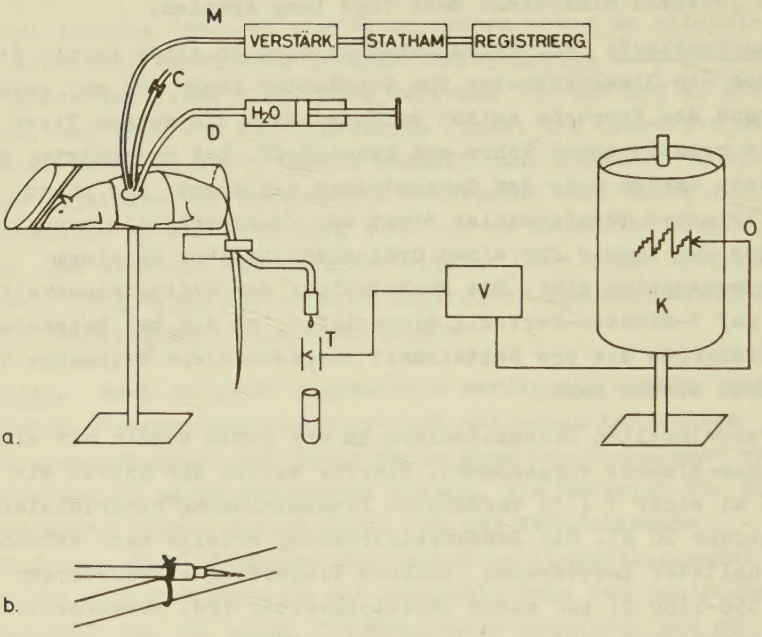

Abb. 1

Darstellungen zur Methodik

a) Schema der Versuchsanordnung:

M = Meßapparatur zur Aortendruckregistrierung
C = Cavakatheter
D = Duodenalkatheter
T = Tropfenzähler
V = Verstärker
K = Rußkymographion
O = Ordinatenschreiber

b) Skizze über die Lage eines PVC-Katheters mit Kanülenspitze in einem Gefäß: der Katheter ist hinter einer Manschette locker angeschlungen, so daß das Gefäß nicht stenosiert werden kann.

Der eigentliche Versuch beginnt, wenn sich - wie meistens innerhalb von 3/4 Stunden (bei Alkoholinfusion 20-30 min) - eine relativ konstante Ausgangsdiurese eingestellt hat. Über den Cavakatheter wird nun Pilocarpin (Merck) in Dosen von 0.1 - 1.0 mg

bzw. 25 und 50 µg Acetylcholin (Hoffmann la Roche) als Stoßinjektion verabreicht. Die Substanzen werden so verdünnt, daß die genannten Mengen in kleine geeichte PVC-Schläuche von 10, 20 und 40 µl Fassungsvermögen aufgesaugt werden können. Diese Schläuche werden auf die Cavakatheter aufgesetzt, so daß ihr Inhalt durch eine kleine Luftblase markiert ist und mit 0.15 ml 0.9%iger Kochsalzlösung intracaval als Stoß injiziert werden kann. Als Maß für die daraufhin beobachteten antidiuretischen Reaktionen wird das Urinvolumendefizit ΔV_u bestimmt. Dieses Volumendefizit ist praktisch als das Integral über die verminderte Urinausscheidung im Vergleich zur etwa gleichmäßigen Ausgangsdiurese zu verstehen. Bei mehreren aufeinanderfolgenden Injektionen wird eine Ruheperiode von mindestens 20 min zwischen Ende der vorausgehenden antidiuretischen Reaktion und nächster Injektion eingehalten.

Veränderungen der Osmolarität des Urins und der entsprechenden Elektrolytkonzentrationen werden im Gefrierpunktosmometer (Fa. Dr. Knauer, Berlin) sowie im Flammenphotometer (Modell "Eppendorf" der Fa. Netheler und Hinz) bestimmt. Hierbei werden die über die gesamte antidiuretische Phase entnommenen Urinproben den jeweils 10minütigen Ruhe- und Nachperioden gegenübergestellt. Die antidiuretische Reaktion wird sowohl für die Berechnung des Volumendefizits als auch für die Entnahme der Urinprobe für beendet angenommen, wenn die Ausgangsdiurese wieder erreicht ist. Um einen Anhalt für die Menge der osmotisch aktiven Substanz im Urin zu erhalten, wird die osmotische Ausscheidung pro Minute errechnet.

3. Kritik der Methodik

Im Mittelpunkt der Untersuchungen stehen die Veränderungen des Urinflusses, die durch die Parasympathikomimetika provoziert werden können. Aus diesem Grund wird insbesondere darauf geachtet, daß die Diureseregistrierungen in den einzelnen Versuchen keinen unkontrollierten Einflüssen unterliegen.

Diureseregistrierung: Ein Störfaktor ist hier mit dem Auftreten von Blasenkontraktionen gegeben. Allerdings lassen sich diese bei 1-minutenperiodischer Registrierung leicht erkennen und gegen die Urinsekretionsrhythmik abgrenzen (KÜSTERMANN, HABERICH, 1966), die physiologischerweise bei der Ratte beobachtet wird. Diese Urinsekretionsrhythmik ist auch der Anlaß dafür, daß für die Ruheperiode vor Injektionen der Substanzen eine 10 min lange Phase einer etwa gleichmäßigen Ausgangsdiurese abgewartet wird. Die Ausgangsdiurese $\dot{V}_0$/min wird über diese Ruheperiode gemittelt. Das Auflösungsvermögen für das Urinvolumendefizit als Versuchsresultat ist durch die 1-minütige Rückstellperiodik am Rußkymographion und die Urintropfengröße von 14 bzw. 22 µl begrenzt. Es fällt dieser Fehler jedoch nicht ins Gewicht, da sich deutliche Veränderungen des Urinflusses zeigen. Auch die Änderung der Tropfengröße durch Urinosmolalitätsänderungen ist zu vernachlässigen, weil sie in der biologischen Schwankungsbreite untergeht.

Für die Entnahme der Urinproben und ihre zeitliche Beziehung zu Diurese und Antidiurese spielt der Totraum von Katheter und ableitenden Harnwegen eine Rolle. Die konstante Blasenkatheterlänge ermöglicht bei Abschätzung des Totraumes von Blase und Ureter eine Berechnung der zeitlichen Verzögerung von Osmolalitätsänderungen. Dieser Gesamttotraum von ca. 160 µl zieht bei einer Tropfengröße von 22 µl eine Verzögerung von ca. 7 Tropfen nach sich und bei 14 µl Tropfen eine Verzögerung von ca. 11 Tropfen. Da die Urinproben jeweils über die gesamte antidiuretische Phase entnommen werden, können kurzfristige Änderungen der Elektrolytkonzentrationen nicht erfaßt werden.

Injektion der Substanzen: Die intracavale Injektion bringt es mit sich, daß nur ein Teil der injizierten Mengen zur Gehirnbasis und Neurohypophyse gelangt. Auf diesem Weg können dafür einerseits verschiedene Durchblutungsgrößen verantwortlich gemacht werden, andererseits spielt auch die Aufnahme durch andere Strukturen, und - insbesondere für Acetylcholin - die schnell eintretende Hydrolyse im Serum eine Rolle. Diese Faktoren erklären auch die relativ hohen Dosen, die zur Auslösung einer antidiuretischen Reaktion benötigt werden.

Das Injektionsvolumen wird stets konstant gehalten, um eine Beeinflussung der antidiuretischen Wirksamkeit auszuschließen, wie sie bei Injektion von exogenem ADH beobachtet wird (HELLER 1956). Das Injektionsvolumen von 0.2 ml wird von einigen Autoren als optimal angesehen (MORAN et al. 1964).

Intraduodenale Infusion: Dieser Weg der Flüssigkeitszufuhr wird gewählt, weil es sich hier um den physiologischen Weg handelt. So soll insbesondere die bedeutende Rolle der Leber im Rahmen des Wasserhaushalts nicht außer acht gelassen werden (HABERICH, AZIZ und NOWACKI 1965). Individuell unterschiedliche duodenale Resorptionsraten, wie sie neben Wasser auch für Alkohol beschrieben werden (EGGLETON 1941), erscheinen dagegen von untergeordneter Bedeutung.

Die Infusionspumpe garantiert eine gleichmäßige Flüssigkeitszufuhr. Das Leitungswasser und die Alkohollösung werden annähernd körperwarm gehalten, um den Einfluß der Temperatur insbesondere auf die Alkoholdiurese möglichst gering zu halten (EGGLETON 1941).

Druckregistrierung: Die Statham-Elemente befinden sich stets auf der Höhe des mittleren Seitenprofils der Tiere. Aus den jeweils gleichen Abmessungen des Kathetersystems folgt die Konstanz der wirksamen Masse und der Trägheit des Systems. Die exakte Lage der Gefäßkatheter ist allein durch den spontanen Blutfluß zu überprüfen, wird aber trotzdem jedesmal in der Sektion begutachtet.

Interaktion mit ADH-freisetzenden Faktoren: Da Äther die ADH-Ausschüttung stimuliert (AMES and VAN DYKE 1952), wird nach dem kurzen Rausch für den Blasenkatheterismus eine Stunde bis zum Beginn der intraduodenalen Infusion gewartet.

Empfindlichkeitsveränderungen für ADH, die sich bei verschiedenen Umgebungstemperaturen und Diäten einstellen (GINSBURG and HELLER 1953), werden durch annähernd konstante Raumtemperaturen bzw. standardisiertes Futter möglichst vermieden.

Bestimmung des Urinvolumendefizites: Die Bestimmung des retinierten Urinvolumens entspricht praktisch der Berechnung des ADH-Wasseräquivalentes, das von GAUER und TATA definiert worden ist (1966). In den vorliegenden Versuchen wird jedoch darauf verzichtet, das Urinvolumendefizit auf die injizierte Dosis eines Parasympathikomimetikums zu beziehen.

Zum Begriff des Urinvolumendefizites ΔV_u ist zu bemerken, daß dieses gegenüber der "antidiuretic potency" (DICKER 1953) nicht nur die Intensität des Effektes über eine definierte Zeit ausdrückt, sondern die Gesamtdauer der antidiuretischen Reaktion mit einbezieht.

4. Ergebnisse

Die folgenden Befunde lassen sich praktisch in zwei Abteilungen gliedern. Im ersten Teil wird die durch Parasympathikomimetika provozierte antidiuretische Reaktion mit der Antidiurese nach Zufuhr von exogenem antidiuretischem Hormon (ADH) verglichen. Es wird also versucht, ADH indirekt - sozusagen auf Grund seiner typischen "Fingerabdrücke" - zu identifizieren. Im zweiten Teil wird mit verschiedenen Versuchsmodifikationen nach einigen Faktoren gesucht, die die provozierte antidiuretische Reaktion beeinflussen.

4. 1 Identifizierung von antidiuretischem Hormon

Die Identifizierung von endogen ausgeschüttetem ADH gelingt durch folgende Eigenschaften, wie sie auch für exogene ADH-Zufuhr charakteristisch sind:

4.1.1 Typischer Verlauf

Bei Injektion von 0.1 bis 1.0 mg Pilocarpin bzw. 25 und 50 µg Acetylcholin intracaval entsteht eine vorübergehende Antidiurese. Die Latenzzeit bis zum Abfall der vorausgegangenen etwa gleichmäßigen Ausgangsdiurese beträgt ca. 2-5 min. Das Wirkungsmaximum, d.h. der Zustand des minimalen Urinflusses, wird kurz nach Beginn der antidiuretischen Reaktion erreicht. Die Rückkehr zur Ausgangsdiurese kann dagegen verzögert verlaufen. In der Nachperiode zeigt sich oftmals eine geringe diuretische Reaktion. Insgesamt sind die provozierten Antidiuresen typisch für exogene ADH-Zufuhr entsprechender Größe.

In einigen Fällen tritt direkt nach Injektion der Substanzen ein kurzfristiger Anstieg des Urinflusses auf. Auch in diesen Fällen wurde das Urinvolumendefizit vom Zeitpunkt der Injektion an berechnet und auf die Ausgangsdiurese bezogen. Die Antidiurese wird deswegen um das Ausmaß der primären diuretischen Reaktion verringert sein, obwohl sie vom optischen Eindruck her um so deutlicher imponiert. Allerdings ist die primäre Diurese nur in 3 Versuchen so stark ausgeprägt, daß sie das gegenüber der Ausgangsdiurese berechnete Urinvolumendefizit vollständig äquilibrierte. Solche Resultate konnten in Zusammenhang mit

einer deutlichen Natriurese und osmotischen Mehrausscheidung während der antidiuretischen Phase beobachtet werden. Die Abb.2

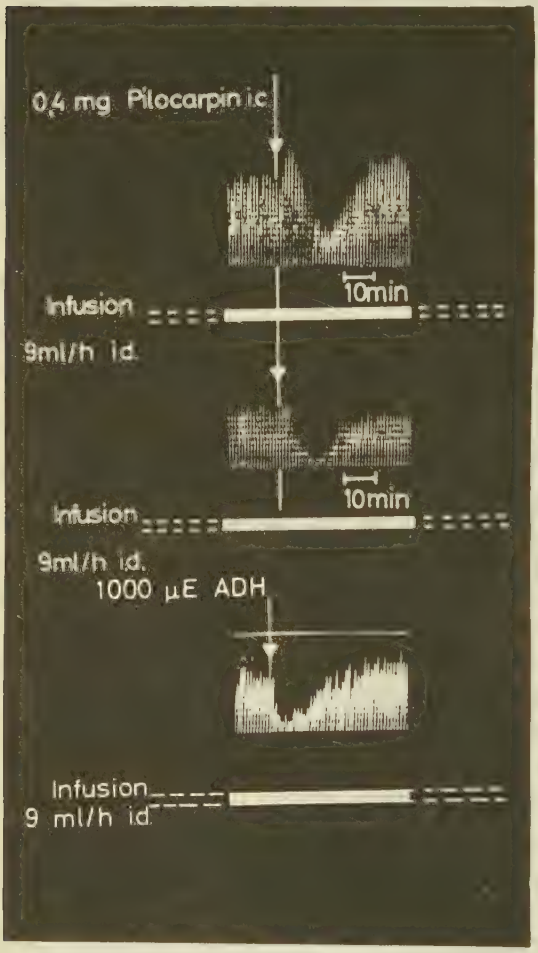

Abb. 2
Originalregistrierungen von zwei typischen Beispielen einer durch 0.4 mg Pilocarpin provozierten antidiuretischen Reaktion im Vergleich zur Antidiurese nach intracavaler Injektion von 1000 µE ADH. Die obere Registrierung zeigt die sofort nach Pilocarpininjektion einsetzende diuretische Reaktion, die in wenigen Fällen beobachtet wird.

Hydrierungsrate:
9 ml H_2O/h intraduodenal
Rückstellung des Oridinatenschreibers jede Minute

zeigt zwei typische Beispiele der antidiuretischen Reaktion nach Injektion von0.4 mg Pilocarpin und zum Vergleich nach Injektion von 1000 µ E ADH.

Arterielle Druckmessungen in der Aorta werden allein nach Pilocarpininjektion vorgenommen. Nach 5 Injektionen von 0.4 mg Pilocarpin tritt ein etwa 10-15 sec andauernder Abfall des arteriellen Druckes um maximal 10-20 mm Hg auf. In weiteren 13 Versuchen mit derselben Dosierung bleibt der Aortendruck praktisch unverändert. Die antidiuretische Reaktion tritt jedoch in allen Fällen, also auch ohne arterielle Druckerniedrigung, auf. In den Versuchen ohne Aortendruckregistrierung ist eine Blutdruckänderung natürlich nicht ausgeschlossen. Für das Anliegen der ADH-Identifizierung ist es jedoch unerheblich, auf welche Art und Weise es zu der provozierten antidiuretischen Reaktion kommt.

4.1.2 Dosisabhängigkeit

Die Dosisabhängigkeit der provozierten antidiuretischen Reaktionen wird für drei verschiedene Pilocarpindosierungen (0.1 ; 0.2 und 0.4 mg Pilocarpin) bei intraduodenalen Hydrierungsraten von 9.0 und 12.0 ml Wasser/h untersucht. Die Verhältnisse werden dadurch kompliziert, daß sich sowohl Hydrierungsrate als auch die Ausgangsdiurese für die Größe des Volumendefizites mitbestimmend erweisen. Aus diesem Grund muß ein Anhaltspunkt in der Abhängigkeit zwischen Volumendefizit und Ausgangsdiurese einerseits bzw. Hydrierungsrate andererseits gefunden werden (s. Abb. 6). Um vergleichbare Verhältnisse darzustellen, sind die Werte für eine ausgeglichene Wasserbilanz (Urinausscheidung = Flüssigkeitseinfuhr; A/E = 1) eingezeichnet. In Abb. 3 ist nun das Volumendefizit als Funktion der Pilocarpindosis aufgetragen. Für eine Hydrierungsrate von 9.0 ml/h besteht eine linear logarithmische Funktion zwischen diesen beiden Größen. Bei einer Hydrierungsrate von 12.0 ml/h kann jedoch keine eindeutige Aussage mehr getroffen werden. Hier ist nämlich mit einer Dosierung von 0.1 mg Pilocarpin praktisch keine antidiuretische Reaktion mehr auszulösen. Es kann im Gegenteil sogar eine diuretische Reaktion beobachtet werden, wie sie im Vergleich zu der erhaltenen Dosis-Wirkungs-Beziehung bei 9.0 ml/h erwartet würde.

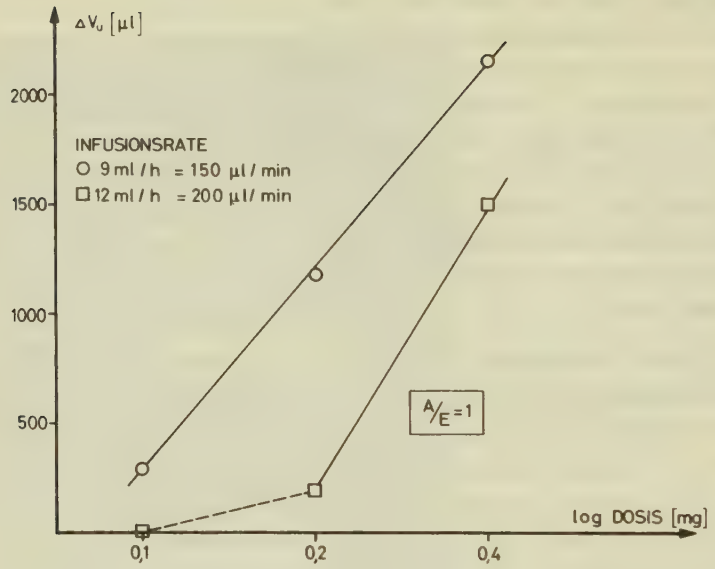

Abb. 3

Dosisabhängigkeit des durch Pilocarpin ausgelösten Urinvolumendefizites.

Abszisse: log Dosis (mg Pilocarpin)
Ordinate: Urinvolumendefizit ΔV_u (µl)

Infusionsraten: 9 und 12 ml H_2O/h intraduodenal

Da sowohl die Infusionsrate als auch die Ausgangsdiurese die Größe des Urinvolumendefizites beeinflussen, sind allein die Werte für eine ausgeglichene Wasserbilanz (Urinausscheidung = Flüssigkeitseinfuhr; A/E = 1) eingezeichnet.

Bei 12 ml/h-Infusionsrate ist mit 0.1 mg Pilocarpin keine Antidiurese auszulösen, so daß die Gerade nur gestrichelt angedeutet ist.

Allerdings ist eine Berechnung dieser Mehrausscheidung unmöglich, da in diesen Fällen die Diurese im Niveau ansteigt und nicht zu Ausgangswerten zurückkehrt. Der entsprechende Teil der Kurve ist deswegen gestrichelt bis zum Nullpunkt auf der Abszisse angedeutet.

4.1.3 Hemmung der antidiuretischen Reaktion bei Alkoholnarkose

Bei intraduodenaler Alkoholinfusion wird die bekannte hemmende Wirkung auf die ADH-Ausschüttung dazu benutzt, das Hormon indirekt nachzuweisen. Handelt es sich bei den provozierten Antidiuresen um eine Freisetzung des antidiuretischen Hormons aus der Neurohypophyse, so darf unter diesen Umständen eine Blockierung des Versuchseffektes erwartet werden. Zu diesem Zweck werden an demselben Versuchstag und an demselben Tier zunächst Kontrollversuche unter Wasserinfusion durchgeführt, ehe die Alkoholnarkose beginnt. Tatsächlich lassen sich die provozierten Antidiuresen gegenüber den Kontrollwerten zumindest verringern und z.T. vollständig unterdrücken. Die Ergebnisse und Detailprobleme werden im zweiten Teil dargestellt.

4.1.4. Ausbleiben der antidiuretischen Reaktion bei osmotischer Diurese

Auch bei dieser Versuchsmodifikation werden Kontrollversuche an demselben Tier und an demselben Versuchstag vorgenommen. Es zeigt sich, daß die osmotische Diurese bei intracavaler Infusion von 6.0 ml einer 10%igen Mannitollösung pro Stunde durch Pilocarpin praktisch nicht beeinflußt wird (s.Abb.5), selbst hohe Dosen von 1.0 mg Pilocarpin ziehen nur geringe oder gar keine Änderungen des Urinflusses nach sich. Tab. 1 zeigt unter Berücksichtigung der Ausgangsdiurese und Infusionsrate eine Gegenüberstellung der Urinvolumendefizite bei Wasserdiurese und osmotischer Diurese.

Hydrierungsrate

6.0 ml Wasser/h i.d.				6.0 ml 10% Mannitol/h i.c.			
Ratte	Dosis (mg)	$\dot{V}_o$ (µl/min)	ΔV_u (µl)	Ratte	Dosis (mg)	V_o (µl/min)	ΔV_u (µl)
				67	0.4	111	0
71	0.4	125	2620	71	0.4	132	253
71	0.4	132	2330	67	1.0	147.5	0
67	0.4	145	3710	68	0.4	152	0
				68	1.0	156	0
Az	0.4	171	6920	Az	0.4	158	450

4.1.5 Refraktärität des Ausschüttungsmechanismus

Bei wiederholten Stoßinjektionen wird eine Refraktärität des Mechanismus beobachtet, d.h. die bei gleicher Dosierung ausgelösten Antidiuresen werden zusehends kleiner. Für die quantitative Erfassung werden an demselben Versuchstier jeweils mindestens 3 Stoßinjektionen hintereinander durchgeführt. Die Refraktärität zeigt sich vor allem dann, wenn zwischen Ende der vorangegangenen Antidiurese und der nächsten Injektion eine Ruheperiode von nur 5 min belassen wird. Abb. 4 zeigt

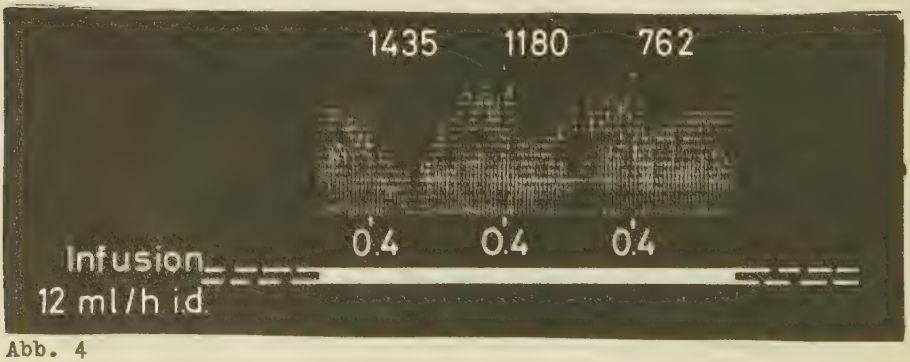

Abb. 4
Originalregistrierung als Beispiel für die Refraktärität bei aufeinanderfolgenden Pilocarpininjektionen. Ruheperiode zwischen Ende der vorangegangenen Antidiurese und der nächsten Injektion von 0.4 mg Pilocarpin jeweils 5 min. Das Urinvolumendefizit verringert sich von 1435 µl über 1180 µl auf 762 µl. Rückstellung des Ordinatenschreibers jede Minute. Infusionsrate: 12 ml H_2O/h i.d.

eine Originalregistrierung bei drei aufeinanderfolgenden Injektionen von 0.4 mg Pilocarpin und ungefähr gleicher Ausgangsdiurese.

Die Refraktärität ist keine absolute, sie läßt sich nicht beliebig weit fortführen. Bei Intervallen von 20 min zwischen den antidiuretischen Phasen entsprechen die ausgelösten Volumendefizite den Kontrollwerten. Es findet ebenfalls praktisch keine weitere Verringerung des Volumendefizites mehr statt, wenn Wirkungsverluste von 1000 bis 3000 µl gegen die Normwerte erreicht sind.

4. 2 Der Einfluß verschiedener Faktoren auf die provozierte antidiuretische Reaktion

4. 2.1 Der Einfluß des Hydrierungszustandes und der Wasserbilanz

Bei Hydrierungsraten von 4.5, 6.0, 9.0 und 12.0 ml Wasser/h wird einerseits der Einfluß des Hydrierungszustandes und andererseits der Einfluß der Wasserbilanz und damit der Größe des Extrazellulärraumes auf das Volumendefizit untersucht. Da die Urinausscheidung nicht in jedem Fall mit den variierten Hydrierungsraten Schritt hält, ergeben sich verschiedene Möglichkeiten der Gesamtwasserbilanz. Ist die Flüssigkeitsausfuhr (Urin) kleiner als die Einfuhr (intraduodenale Infusion), wird also Flüssigkeit retiniert, so ergibt sich eine positive Wasserbilanz. Dieser Zustand kann mit einigen Einschränkungen einer Auffüllung des extrazellulären Raumes gleichgesetzt werden. Die negative Wasserbilanz beschreibt die umgekehrten Verhältnisse. Der besondere Fall der ausgeglichenen Bilanz, wenn sich also Flüssigkeitseinfuhr und -ausfuhr einander entsprechen, kann zur Beurteilung des Einflusses der verschiedenen Hydrierungsraten selbst herangezogen werden.

Einfluß von Ausgangsdiurese und Infusionsrate

Da mit einer bestimmten Dosis eines Parasympathikomimetikums stets derselbe Stimulus gesetzt wird, läßt sich untersuchen, inwieweit verschiedene Hydrierungsraten das Ausmaß der resultierenden Antidiuresen beeinflussen können. Hierbei zeigt sich,

daß die Größe des Volumendefizites in bedeutendem Maße nicht nur von der Infusionsrate sondern auch von der Ausgangsdiurese abhängig ist.

Abb. 5

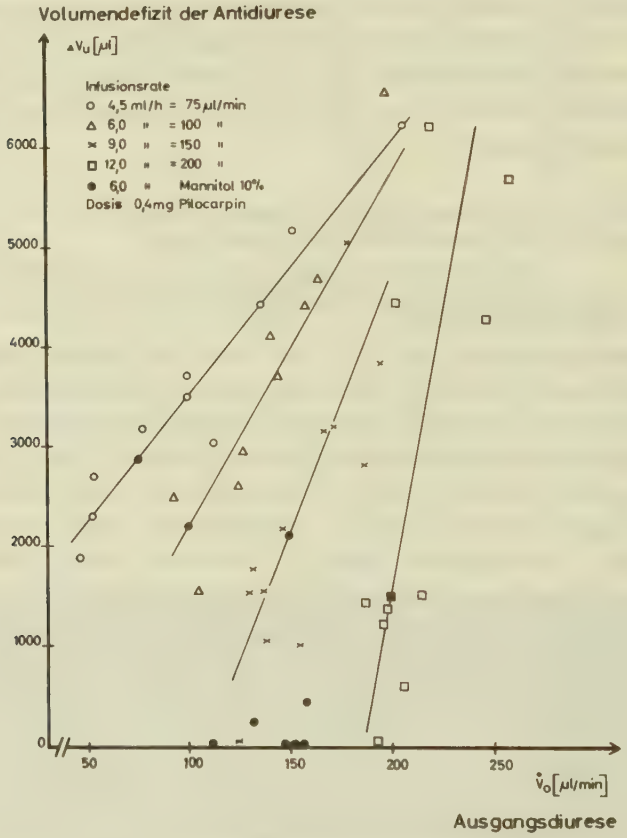

Abb. 5
Das Volumendefizit der Antidiurese als Funktion der Ausgangsdiurese für verschiedene Hydrierungsraten als Parameter.
Hydrierungsraten: 4.5 ml H_2O/h = 75 µl/min
6.0 ml H_2O/h = 100 µl/min
9.0 ml H_2O/h = 150 µl/min
12.0 ml H_2O/h = 200 µl/min

Die schwarz hervorgehobenen Punkte auf den Geraden kennzeichnen die Größe des Urinvolumendefizites, das bei ausgeglichener Wasserbilanz (Ausgangsdiurese = Infusionsrate; A/E = 1) gewonnen wird.

gibt die Ergebnisse wieder, die an 30 Ratten mit einer Dosis von 0.4 mg Pilocarpin und bei vier verschiedenen Hydrierungsraten gewonnen wurden. Es ist die Beziehung zwischen Ausgangsdiurese und Volumendefizit für die Hydrierungsraten als Parameter eingezeichnet. Für jede Hydrierungsrate besteht eine etwa lineare Beziehung zwischen dem Volumendefizit der Antidiurese und der Ausgangsdiurese. Andererseits verhält sich das Volumendefizit bei gleich großer Ausgangsdiurese umgekehrt proportional zur Infusionsrate. Wie die schwarz hervorgehobenen Punkte auf den Geraden zeigen, ist das auch dann der Fall, wenn bei gleich großer Flüssigkeitsein- und -ausfuhr wesentliche Veränderungen des Extrazellulärraumes nicht auftreten dürften. Da nur vier Hydrierungsraten zur Anwendung kamen, ist aus der Anordnung der Punkte nicht zu entnehmen, ob es sich dabei z.B. um eine hyperbolische oder eine lineare Funktion handelt.

Es fällt auf, daß die Streuung der Werte bei größeren Hydrierungsraten zunimmt. Diese Tatsache deutet an, daß bei hohen Infusionen das Ausmaß der antidiuretischen Reaktion zusätzlich von anderen Faktoren beeinfluß wird. Regressionsgeraden und Korrelationskoeffizienten sind in Tab. 2 wiedergegeben.

0.4 mg Pilocarpin i.C.

Hydrierungsrate	Regressionsgerade	n	r
4.5 ml/h = 75 µl/min	y = 25.3 x + 991.9	9	0.976
6.0 100	y = 35.6 x - 1393.4	9	0.878
9.0 150	y = 51.8 x - 5653.1	14	0.482
12.0 200	y = 106.0 x - 19700.0	9	0.504

Einfluß einer positiven Wasserbilanz

Wie sich aus dem Schnittpunkt der Geraden in Abb.5 mit der Abszisse ergibt, bleibt die antidiuretische Reaktion gewöhnlich aus, wenn die Ausgangsdiurese unter dem entsprechenden Abszissenwert liegt. Der Grenzwert für die Hydrierungsrate von 9.0 ml/h (150 µl/min) liegt bei einer Ausgangsdiurese von etwa 110 µl/min, für 12.0 ml/h (200 µl/min) bei etwa 185 µl/min. Die zugehörigen Werte, die bei kleineren Ausgangsdiuresen gewonnen wurden, sind

bei der Berechnung der Regressionsgeraden nicht berücksichtigt worden, um das Kurvenbild nicht zu verfälschen. Aus diesem Grund sind diese Werte auch nicht in die Abbildung aufgenommen worden. Bei 12 ml/h-Infusion war unterhalb des Grenzwertes in 17 Versuchen keine Antidiurese auszulösen, oder es konnte sogar eine mehr oder weniger starke Diurese beobachtet werden. In weiteren vier Versuchen wurden Volumendefizite erzielt, die sich etwa in derselben Größenlage wie die bei osmotischer Diurese bewegten. Sie haben deswegen als eindeutiges Versuchsresultat keine Aussagekraft. Nur in einem Versuch ist ein deutliches Volumendefizit festzustellen. Bei niedrigen Hydrierungsraten ist praktisch in jedem Fall - auch mit kleinen Pilocarpindosierungen - eine Antidiurese zu erzeugen. Das Ausbleiben der antidiuretischen Reaktion ist also an hohe Hydrierungsraten bei gleichzeitig niedrigen Ausgangsdiuresen gebunden, was einer extrem positiven Wasserbilanz entspricht.

Einfluß der Hydrierungsrate auf die provozierte antidiuretische Reaktion

Die für die einzelnen Infusionsraten erhaltenen Geraden haben verschiedene Steigungen, streben mit zunehmender Ausgangsdiurese einander zu, um sich scheinbar in einem gemeinsamen Punkt zu schneiden. Diese Steigungen sind ein Maß für die Empfindlichkeit der zugrunde liegenden Regulationen in Abhängigkeit von Veränderungen der Ausgangsdiurese. Hierbei wächst der Logarithmus der Steilheit proportional mit der Infusionsrate. (Abb. 6)

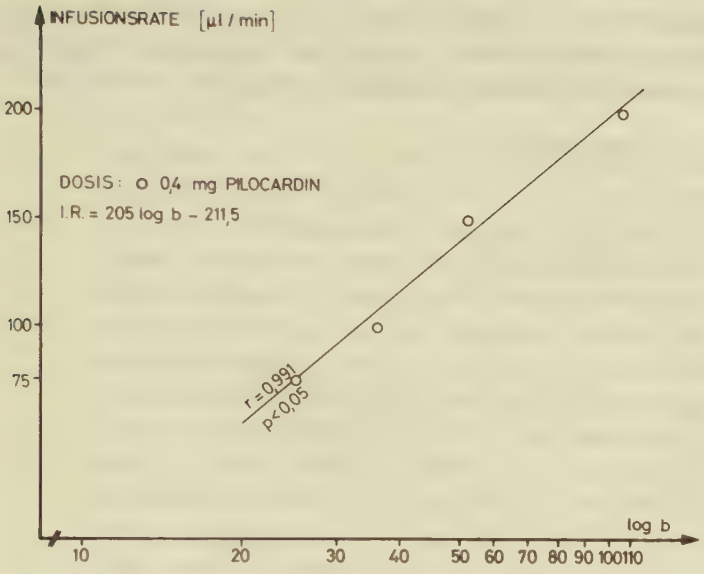

Abb. 6
Beziehung zwischen der intraduodenalen Infusionsrate und der Größenzunahme des Urinvolumendefizites.
Abszisse: log b = Steigung der in Abb. 5 für verschiedene Hydrierungsraten erhaltenen Geraden

Ordinate: Hydrierungsrate (µl/min)

Pilocarpindosis: 0.4 mg

Faßt man den Einfluß von Ausgangsdiurese und Infusionsrate auf die Größe des Volumendefizites zusammen, so läßt sich eine Gleichung formulieren, die die Abhängigkeiten annähernd beschreibt.

$$\Delta V_u = 10.7 \cdot 10^{\frac{E}{205}} \dot{V}_o + c$$

(E = Flüssigkeitseinfuhr),

Bei niedrigen Pilocarpindosierungen ist auch die Steilheit der Geraden geringer. Im Prinzip ergeben sich jedoch dieselben Beobachtungen wie bei höherer Dosierung.

Zusammenhang zwischen Zeitdauer der Antidiurese und Volumendefizit

Die Abhängigkeit des Volumendefizites der Antidiurese von der Hydrierungsrate läßt sich z.T. durch die verschieden lange Dauer der antidiuretischen Phasen erklären. In Abb.7

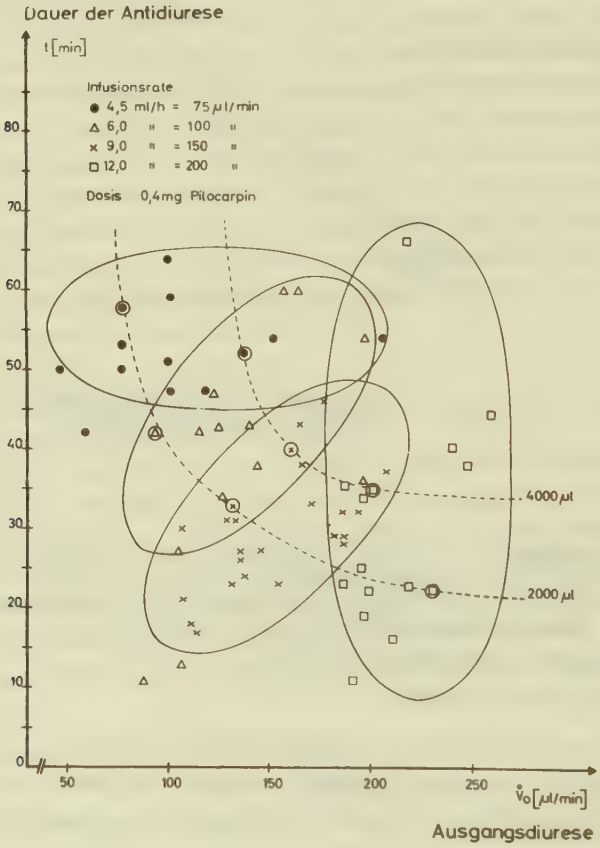

Abb. 7
Zusammenhang zwischen Zeitdauer der Antidiurese und Ausgangsdiurese.
Die Werte für die verwendeten Infusionsraten von 4.5, 6.0, 9.0 und 12 ml H_2O/h sind in Feldern zusammengefaßt. Urinvolumendefizite gleicher Größe - in der Abbildung für 2000 µl und 4000 µl - sind durch die gestrichelte Kurve miteinander verbunden.

ist diese Dauer als Funktion der Ausgangsdiurese aufgetragen. Die Werte für die einzelnen Infusionsraten sind in Feldern zusammengefaßt, da in ihrem Bereich die Streuung relativ groß ist. Trotzdem lassen sich die eingetragenen Bereiche deutlich voneinander abgrenzen. Die graphische Darstellung enthält folgende Aussagen:

1. Die Dauer der Antidiurese ist bei gleicher Ausgangsdiurese umgekehrt proportional zur Infusionsrate. Bei 4.5 ml/h-Infusion kann eine Abstufung der antidiuretischen Wirksamkeit vor allem durch Veränderung der Ausgangsdiurese erreicht werden. Diese Tatsache entspricht der Beobachtung, daß die Ausgangsdiurese bei niedrigen Hydrierungsraten innerhalb eines breiten Spektrums variieren kann. Mit steigenden Hydrierungsraten gewinnt jedoch zunehmend die Dauer der Antidiurese an Bedeutung. Hier ist aus physiologischen Gründen eine Steigerung der Ausgangsdiurese nicht mehr in dem Maße möglich. Bei einer Ausgangsdiurese von 125 µl/min beträgt die mittlere Zeitdifferenz zwischen 4.5, 6.0 und 9.0 ml/h-Hydrierung jeweils etwa 15 min.
2. Für Volumendefizite gleicher Größe - die Abbildung weist als Parameter 2000 und 4000 µl auf - besteht eine hyperbolische Funktion zwischen Ausgangsdiurese und Zeitdauer der Antidiurese.

4.2. 2 Der Einfluß der Alkoholnarkose auf die provozierte antidiuretische Reaktion

Die Versuche am alkoholnarkotisierten Tier wurden durchgeführt, um einerseits die lange bekannte hemmende Wirkung auf die Freisetzung des antidiuretischen Hormons auszunutzen und es damit indirekt nachzuweisen. Andererseits wurde untersucht, ob sich unter Alkoholnarkose Diskrepanzen zwischen Pilocarpin- und Acetylcholinwirkung ergeben.

Daher ergab sich die Notwendigkeit, nach Beginn der Alkoholnarkose zumindest zwei Versuche hintereinander durchzuführen. Außerdem fanden an denselben Ratten direkt vorher Kontroll-

versuche im wachen Zustand statt, bei denen dasselbe Volumen Wasser intraduodenal infundiert wurde. In den Abbildungen 8 und 9

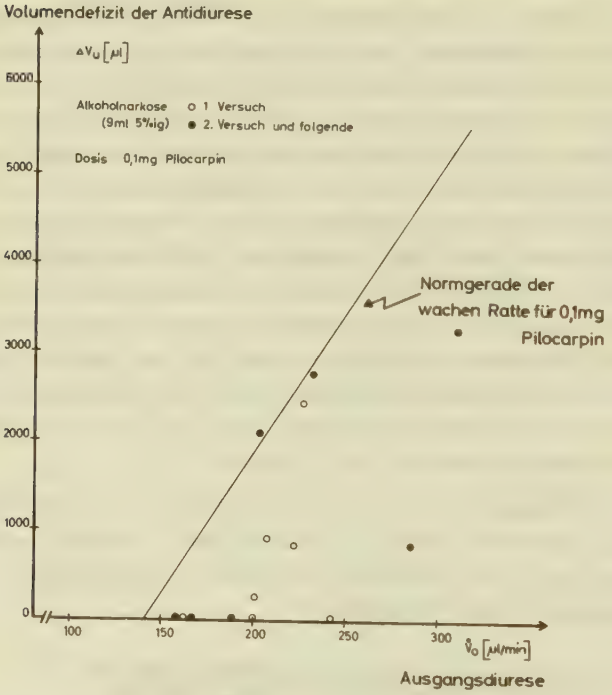

Abb. 8
Hemmung der provozierten antidiuretischen Reaktion an der alkoholnarkotisierten Ratte: das Urinvolumendefizit als Funktion der Ausgangsdiurese für 0.1 mg Pilocarpin. Die Kreise kennzeichnen den jeweils ersten Versuch einer Reihe unter Alkoholnarkose, die Punkte die 2. und folgenden Versuche. Die eingetragene Gerade ist die Normgerade wacher Ratten für dieselbe Dosierung.

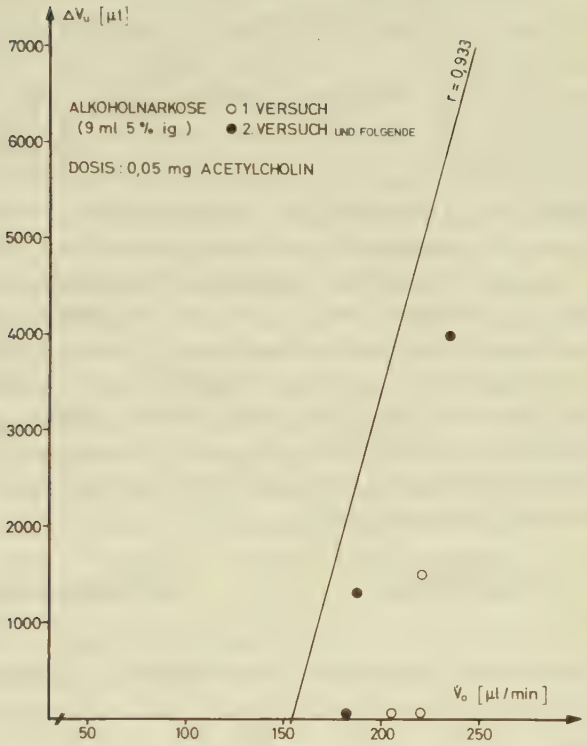

Abb. 9
Hemmung der provozierten antidiuretischen Reaktion an der alkoholnarkotisierten Ratte: das Urinvolumendefizit als Funktion der Ausgangsdiurese für 0.05 mg Acetylcholin (s. Legende Abb. 8)

ist wieder das Volumendefizit der Antidiurese als Funktion der Ausgangsdiurese aufgetragen (Dosierungen: 0.1 mg Pilocarpin bzw. 50 µg Acetylcholin). Der jeweils erste Versuch einer Reihe ist in der Abbildung durch einen offenen Kreis, die folgenden durch einen geschlossenen Kreis dargestellt. Die eingetragenen Geraden sind die Normgeraden wacher Ratten für dieselbe Dosierung. Sowohl für Pilocarpin als auch für Acetylcholin liegen bei Alkoholnarkose fast alle Werte unter dieser Geraden.

Bei spät nach Narkosebeginn stattfindenden Versuchen ist mehrmals kein Wirkungsverlust zu beobachten, wie die geschlossenen Kreise in der Abbildung andeuten. Allerdings ist ein Wirkungsunterschied zwischen dem 1. und den folgenden Versuchen einer Reihe statistisch nicht signifikant. Bezieht man den Wirkungsverlust des jeweils ersten Versuches unter Alkoholnarkose nicht auf die Regressionsgerade aller Ratten sondern nur auf den Kontrollversuch desselben Tieres, so ist nach Acetylcholin statistisch signifikant häufiger kein Wirkungsverlust unter Alkoholnarkose festzustellen.

	kein Wirkungsverlust	Wirkungsverlust	
ACHO 50 µg	3	4	$p < 0.05$
PC 0.1 mg 0.2 0.4	2	14	

Eine Dissoziation der Pilocarpin- und Acetylcholinwirkung unter Alkoholnarkose bei derselben Ratte kann zwar hin und wieder beobachtet werden (s.Tab.3), läßt sich jedoch statistisch nicht sichern.

Ratte 111 7.12.

Hydrierungsrate: 9.0 ml Wasser/h i.d.			9.0 ml 5% C_2H_2OH/h i.d.		
Dosis	$\dot{V}_o$	$\Delta\dot{V}_u$	Dosis	$\dot{V}_o$	$\Delta\dot{V}_u$
0.1 mg PC	215	2700	0.1 mg PC	222	858
0.05 mg ACHO	180	1275	0.05mg ACHO	187	1295

4.2.3. Der Einfluß der Urinelektrolyte und -osmolalität

In der Mehrzahl der vorliegenden Versuche ist ein herausragender Einfluß der osmotischen und Elektrolytmehrausscheidung während der Antidiurese auf die Größe des Urinvolumendefizites nicht auszumachen. Abgesehen davon ist es sehr schwierig, klare Aussagen über die Kausalität der Vorgänge zu treffen. Dieses wird dadurch unterstrichen, daß bei gleich großen Volumendefiziten die Möglichkeiten der Elektrolytveränderungen während der Antidiurese außerordentlich vielfältig sind. In den meisten Versuchen wird eine Natriurese während der antidiuretischen Phase beobachtet. So findet nach Injektion von 0.4 mg Pilocarpin nur in 20 von 100 Fällen (einschließlich der Refraktäritätsversuche) eine Na-Retention während der Antidiurese statt. Die Verhältnisse werden zusätzlich dadurch erschwert, daß eine Natriurese nicht gesetzmäßig mit einer gesamtosmotischen Mehrausscheidung verbunden sein muß. So wird eine Retention von osmotisch aktiver Substanz während der Antidiurese in 43 von den 100 Versuchen beobachtet. Die Fälle dieser "kompensierten Natriurese" bewirken keine erfaßbare Veränderung des Urinvolumendefizites.

Ein Anstieg der osmotischen Ausscheidung während der antidiuretischen Reaktion gegenüber der Ruheperiode ist jedoch bei gleicher Ausgangsdiurese mit einem Abfall des Volumendefizites verbunden (Abb. 10).

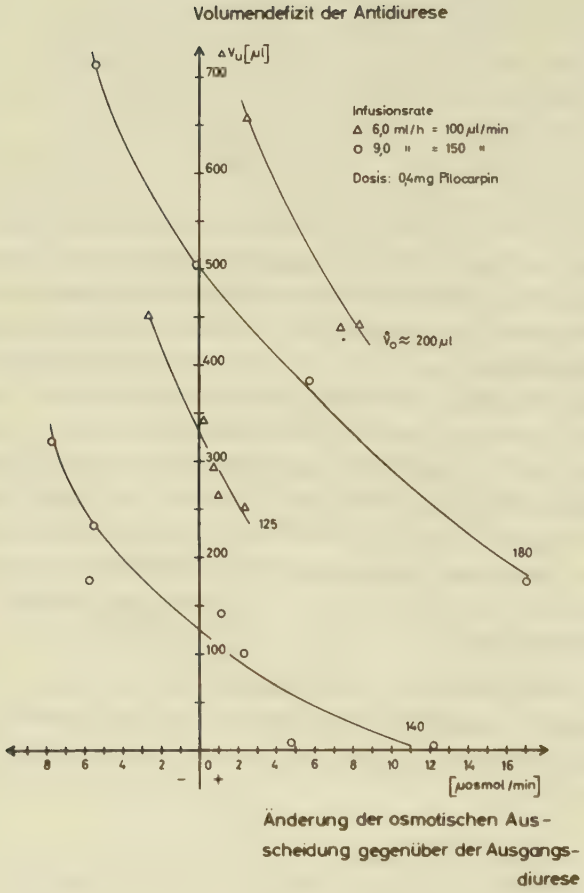

Abb. 10
Beziehung zwischen Urinvolumendefizit und Urinosmolatität:
Abszisse: Änderungen der osmotischen Ausscheidung gegenüber der Ausgangsdiurese (µosmol/min)
Ordinate: Urinvolumendefizit ΔV_u (µl)
Es sind jeweils Werte für gleiche Ausgangsdiuresen $\dot{V}_o$ und Infusionsraten miteinander verbunden.

Es ist ebenfalls die Korrelation zwischen osmotischer Mehrausscheidung und Ausbleiben der Antidiurese statistisch gesichert. Die Tabelle 4 umfaßt das gesamte Versuchsgut bei 9.0 und 12.0 ml Infusion.

Osmotische Ausscheidung

	fällt ab	steigt an	
Antidiurese	36	64	$p < 0.05$
keine Antidiurese	3	21	

5. Diskussion

Die antidiuretische Wirksamkeit von Acetylcholininjektionen war bereits als Stimulans einer ADH-Sekretion aufgedeckt worden (PICKFORD 1939), bevor VERNEY die Hypothese der Osmorezeptoren postulierte (1947). Ein Zusammenhang beider Beobachtungen schien zum ersten Mal möglich, als BARGMANN die Ausschüttung von antidiuretischem Hormon als Neurosekretion erklärte (1949). Der cholinergische Mechanismus der ADH-Freisetzung wird heute von der Mehrzahl der Autoren akzeptiert. Er ist sozusagen der Initialfaktor einer "letzten gemeinsamen Strecke" für alle physiologischen Afferenzen, die zu einer endogenen ADH-Freisetzung führen. Im weiteren Verlauf sollen dann die in der Neurohypophyse ankommenden Aktionspotentiale des Tractus supraoptico-hypophyseus zu einem Ca^{++}-Einstrom in die Nervenendigungen führen. Diese Ca^{++}-Ionen lösen die Bindung des sofort verfügbaren ADH von Neurophysin. ADH kann so in den Portalkreislauf der Hypophyse aufgenommen und zur Niere transportiert werden (THORN 1966). Unklarheiten bestehen jedoch über die detaillierte Art und Weise des cholinergischen Angriffspunktes (de ROBERTIS 1964). Außerdem wird im Zusammenhang damit diskutiert, ob Veränderungen des Wasserhaushaltes diesen Mechanismus beeinflussen können (LEDERIS 1967).

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit sind geeignet, die Hypothese des cholinergischen Mechanismus zu unterstützen. Es wird ferner gezeigt, daß der Hydrierungszustand des Organismus in ganz bedeutsamem Maße die Bereitschaft zur Freisetzung von ADH beeinflussen kann. Da verschiedene Narkosetechniken Einfluß auf den Wasserhaushalt nehmen können, ist besonders zu berücksichtigen, daß die Ergebnisse an der wachen Ratte gewonnen wurden, zumal die bisherigen Befunde in der Literatur praktisch nur am narkotisierten Tier erhoben wurden.

1. Vergleicht man die Eigenschaften der durch Parasympathikomimetika erzielten Antidiuresen mit denjenigen nach exogener ADH-Zufuhr, so ergibt sich grundsätzliche Übereinstimmung.

Bei einer Gegenüberstellung der entsprechenden Diureseregistrierungen fällt vor allem die außerordentliche Ähnlichkeit der antidiuretischen Reaktionen hinsichtlich Form und Verlauf auf.

Die provozierten Antidiuresen sind somit typisch für exogene ADH-Zufuhr einer bestimmten Quantität.

Geringe Abweichungen von dieser typischen Verlaufsform bestehen nur in zweierlei Hinsicht. Nach Gabe eines Parasympathikomimetikums kann die Latenzzeit bis zum Einsetzen der Antidiurese diejenige nach exogener ADH-Zufuhr überschreiten, die von DICKER (1953) mit etwa 2 min angegeben wurde. Dieser Unterschied läßt sich jedoch leicht dadurch erklären, daß eine zusätzliche Zeitspanne für die Passage der Parasympathikomimetika bis zur Gehirnbasis und den darauf folgenden Freisetzungsmechanismus in Anspruch genommen werden muß.

In einem weiteren Teil der Versuche wird eine kurzfristige diuretische Reaktion beobachtet, bevor sich die Antidiurese einstellt. Dieser Anstieg läßt sich durch eine primäre natriuretische Wirkung der Parasympathikomimetika an der Niere erklären (VANDER 1964).

Die logarithmische Funktion der Dosis-Wirkungs-Kurve ist ein weiteres Indiz dafür, daß es sich bei den provozierten Antidiuresen um ADH-Wirkungen handelt. Nach GAUER und TATA (1966) ist dieses ein Charakteristikum sowohl des exogenen als auch des endogenen ADH. Außerdem konnte unter genau denselben Versuchsbedingungen festgestellt werden (VOGEL et al. 1969), daß die Dosis-Wirkungs-Kurve bei exogener ADH-Zufuhr bis maximal 250 µE linear, darüber jedoch logarithmisch verläuft (in Abhängigkeit von Ausgangsdiurese und Infusionsrate). Die Antidiuresen in den vorliegenden Versuchen lassen aber bei ausgewogener Wasserbilanz mit Sicherheit auf ADH-Ausschüttungen schließen, die über 250 µE liegen.

Die Abschwächung oder das Ausbleiben der antidiuretischen Reaktion unter Alkoholnarkose und osmotischer Diurese kann als weiterer Hinweis auf ADH-Wirkungen angesehen werden. Beide Versuchsmodifikationen sind - besonders in Kombination miteinander - außerordentlich spezifisch für die Identifizierung von ADH. Unter Alkoholnarkose gelingt es nämlich, die ADH-Ausschüttung aus der Neurohypophyse isoliert zu blockieren (EGGLETON 1941); d.h. es handelt sich um pharmakologisch hypophysektomierte Versuchstiere. Bei osmotischer Diurese wiederum

kann ADH auf Grund seiner peripher registrierbaren Wirkungen an der Niere erkannt werden. Die osmotische Diurese wird wie durch ADH so auch durch die Parasympathikomimetika nicht beeinflußt.

Im Zusammenhang mit den elektronenmikroskopischen Befunden von FUJITA und HARTMANN (1961) ist die beobachtete Refraktärität des Mechanismus als weiteres Glied in der Beweiskette für ADH zu werten. Diese Autoren fanden nach Pilocarpingabe beim Kaninchen eine deutliche Abnahme der ADH enthaltenden Granula in der Neurohypophyse. Auf diesen Erkenntnissen beruhend, läßt sich die Refraktärität höchstwahrscheinlich nicht mit der Tachyphylaxie erklären, die nach wiederholter Zufuhr von exogenem ADH beobachtet wurde (DICKER 1953). Über den indirekten ADH-Nachweis hinaus ist die Refraktärität deshalb auch Anzeichen einer neurohypophysären Erschöpfung. Dafür spricht einerseits die Tatsache, daß schon nach 20 min einer Erholungsphase keine Refraktärität mehr nachgewiesen werden kann. Andererseits ist die Refraktärität nicht unbegrenzt auslösbar und findet ihre Grenze mit Erreichen eines bestimmten Wirkungsverlustes. Es liegt also der Schluß nahe, daß in der Neurohypophyse sowohl ein sofort verfügbarer ADH-pool als auch ein Reserve-pool angehäuft ist. Die Erschöpfbarkeit ist auf Entleerung des sofort frei verfügbaren ADH-pools zurückzuführen, der bei Bedarf durch einen ständigen Nachschub aus dem Reservoir aufgefüllt werden kann. Damit stehen diese Ergebnisse in Übereinstimmung mit den Befunden von SACHS (1967), der die Abschwächung der antidiuretischen Reaktionen nach wiederholten Hämorrhagien mit neurohypophysärer Erschöpfung zu erklären versuchte.

Die gering ausgeprägten arteriellen Druckeffekte nach Pilocarpininjektion deuten an, daß es sich bei den provozierten Antidiuresen tatsächlich um eine primäre Wirkung auf den cholinergischen Freisetzungsmechanismus handeln dürfte und nicht um einen sekundären infolge eines Blutdruckabfalles. Der wenig ausgeprägte vasodilatatorische Effekt von Pilocarpin ist schon seit längerem bekannt (BOWMAN, RAND, WEST 1968) und wird mit einer Atropin-empfindlichen Stimulation der sympathischen Ganglienzellen erklärt. Bei überwiegender Wirkung auf die sympathischen

Ganglienzellen kann es dabei sogar zu einem kurzfristigen Blutdruckanstieg kommen (DRILL 1968). Dieser blutdruckstabilisierende Effekt entspricht der Nicotinwirkung des Acetylcholins. Aus diesem Grund wurden einige Versuchsreihen im wesentlichen mit Pilocarpin durchgeführt, da bei Acetylcholin selbst die Erregung postganglionärer parasympathischer Strukturen im Vordergrund steht. Hier läßt sich durchaus die Beobachtung einreihen, daß nach Acetylcholininjektion signifikant häufiger bei Alkoholnarkose kein Wirkungsverlust eintritt.

2. Die provozierten Antidiuresen sind bei gleichem Stimulus in bedeutendem Ausmaß von der Hydrierungsrate und der Ausgangsdiurese abhängig.

Mit einigen Einschränkungen (Perspiratio insensibilis, individuelle Wasserresorption aus dem Darmlumen) kann in diesen Experimenten die Infusionsrate bei ausgeglichener Wasserbilanz als Maß für den Hydrierungszustand des Versuchstieres herangezogen werden. Das Verhältnis von Infusionsrate zur Ausgangsdiurese wiederum kann als Anhalt für Veränderungen des extrazellulären Raumes dienen.

VOGEL et al. (1969) haben in ihrer Arbeit hauptsächlich den Einfluß dieser beiden Parameter auf die Nierenempfindlichkeit gegenüber ADH erfaßt, so daß eine Abgrenzung dieser peripheren Veränderungen möglich ist. Es zeigt sich nämlich unter denselben Versuchsbedingungen, daß auch das sogenannte ADH-Wasseräquivalent nach exogener ADH-Zufuhr von Ausgangsdiurese und Infusionsrate abhängig ist. Die bestehenden Unterschiede sind allein auf eine Beeinflussung des hypothalamo-hypophysären Systems zurückzuführen. So läßt sich ermitteln, daß bei 6.0 ml/h-Hydrierungsrate und ausgeglichener Wasserbilanz (A/E=1) die erzielten Antidiuresen einer exogenen ADH-Zufuhr von etwa 750 µE entsprechen. Mit zunehmenden Infusionsraten (9.0 und 12.0 ml/h) werden die provozierten Antidiuresen kleiner, was jeweils einem Wirkungsverlust von etwa 250 µE exogenen ADHs entspricht. Da jedoch der ADH-Wirkungsverlust stärker ausgeprägt ist als der Abfall des Volumendefizites, steigt das errechnete ADH-Wasseräquivalent mit zunehmender Hydrierungsrate an (bei A/E = 1). Es ergibt sich für 6.0 ml-Hydrierung ein ADH-Wasseräquivalent von etwa 3.0 µl/µE, für 9.0 ml von 4.2 µl/µE und für 12.0 ml

von 6.0 µl/µE. Damit ist deutlich, daß die ADH-Mengen bei hohen Hydrierungsraten wesentlich effektiver verwendet werden können als dieses bei niedrigen Hydrierungsraten der Fall ist. Auch die Zunahme des Volumendefizites bei Zunahme der Ausgangsdiurese ist bei den provozierten Antidiuresen für jede einzelne Infusionsrate weit stärker ausgeprägt als nach exogener ADH-Zufuhr.

Bisher vorliegende Erkenntnisse sind mittels histologischer Methoden bei chronischer (tagelanger) Hydrierung gewonnen worden. Demnach kann angenommen werden, daß die ADH-Synthese mit steigender Hydrierung des Organismus vermindert ist (SACHS 1967), während sich der ADH-pool in der Neurohypophyse jedoch auffüllt. (ORTMANN 1951) Die vorliegenden Befunde können deswegen nur so erklärt werden, daß bei ausgeglichener Wasserbilanz die durch den gleichen Stimulus freisetzbare ADH-Menge mit zunehmender Hydrierung abnimmt. Damit ist auch die Abhängigkeit der Zeitdauer der antidiuretischen Reaktion von der Infusionsrate als Ausdruck der ausgeschütteten ADH-Mengen zu werten. Es erscheint möglich, daß der Hydrierungszustand über die veränderte Plasmaosmolalität registriert wird. In diesem Fall könnte im Rahmen der VERNEYschen Hypothese die Hypotonizität des Plasmas einen direkten Einfluß auf den cholinergischen Freisetzungsmechanismus für ADH ausüben. LEDERIS (1967) diskutiert in diesem Zusammenhang, ob der veränderte Cholinesterasegehalt der Neurohypophyse als Spiegel des Hydrierungszustandes angesehen werden kann. Infolgedessen sollten Kaliberänderungen der neurohypophysären Gefäße für einen beschleunigten oder verlangsamten Hormonabtransport verantwortlich sein. Es ist auffällig, daß die überwiegende Bedeutung der Zeitdauer der Antidiurese bei hohen Infusionen hier durchaus eingereiht werden könnte. Besondere Aktualität erhalten die Ergebnisse durch die Untersuchungen von AZIZ (1969), wonach der Hydrierungszustand eine verschiedene Frequenz der spontan ausgeschütteten "ADH-Quanten" bedingen soll.

Der Einfluß des extrazellulären Raumes auf die ADH-Ausschüttung und eine Veränderung der Nierenempfindlichkeit ist in der Literatur bisher nicht erwähnt worden. Zum Teil mag es daran liegen, daß gerade ein feed-back-Mechanismus für die Hydrierung gewählt wurde, um konstante Bedingungen für einen ADH-Test zu schaffen (GAUER und TATA 1966).

Aus den vorliegenden Versuchen geht jedoch hervor, daß der Extrazellulärraum - ausgedrückt durch die Wasserbilanz - insbesondere bei hohen Infusionsraten eine große Rolle spielt. Bei positiver Wasserbilanz ist dann keine Antidiurese auszulösen. Das kann als Zeichen dafür gewertet werden, daß keine effektiven ADH-Mengen mehr ausgeschüttet werden. Ist jedoch die Flüssigkeitsausfuhr größer als die -einfuhr, so steigt die Bereitschaft zur ADH-Abgabe um so rascher an, je höher die Hydrierungsrate ist. Damit nähern sich die ausgeschütteten Mengen bei hohen Infusionen denen, die auch bei niedrigen Infusionen erreicht werden. Es kann also einerseits der Extrazellulärraum bei höchsten Hydrierungsraten empfindlich feinreguliert und vor akuten und bedrohlichen Veränderungen bewahrt werden. Andererseits spricht die logarithmische Abhängigkeit der Steilheit der Geraden von der Infusionsrate für ein Erlahmen der Regulierungsfähigkeit bei hohen Infusionen und Annäherung an unphysiologische Verhältnisse.

Es stellt sich nun die Frage, welche Rezeptoren die Veränderungen des Extrazellulärraumes registrieren. Es bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten, die Rolle der Leber bei der Regulierung des Wasserhaushaltes (HABERICH, AZIZ und NOWACKI) auch unter diesen Umständen abzuklären.

3. Unter Alkoholnarkose können die antidiuretischen Reaktionen teilweise oder vollständig unterdrückt werden.

Dieses Ergebnis ist als ein um so eindeutigerer Wirkungsverlust zu interpretieren, da bei der alkoholnarkotisierten Ratte zusätzlich die periphere ADH-Empfindlichkeit stark vergrößert ist (DICKER 1953; HELLER 1959; VAN DYKE and AMES 1951; GAUER und TATA 1966).

Es ist auffällig, daß bei spät nach Narkosebeginn stattfindenden Versuchen mehrmals kein Wirkungsverlust registriert wird. Dieser Befund steht in Übereinstimmung mit der Erkenntnis von EGGLETON (1941), daß anscheinend nur ansteigende Alkoholkonzentrationen im Plasma die ADH-Ausschüttung wirksam blockieren

können. Allerdings hat auf Grund der erhöhten ADH-Empfindlichkeit wahrscheinlich auch in diesen Fällen eine Hemmung der Hormonsekretion stattgefunden.

Verschiedene Theorien zum Freisetzungsmodus von ADH lassen es möglich erscheinen, daß ein cholinergischer Mechanismus sowohl im Hypothalamus (Nucleus supraoptious et paraventricularis) als auch in der Neurohypophyse den auslösenden Faktor darstellt (LEDERIS 1967; DE ROBERTIS 1962). Unter der Annahme, daß Pilocarpin und Acetylcholin auf Grund ihrer pharmakologischen Eigenschaften an diesen Orten verschiedene Wirkungsintensitäten entfalten (s. auch Wirkung auf den Blutdruck), hätten unterschiedliche Wirkungsverluste auftreten müssen, wenn die Alkoholnarkose hauptsächlich den hypothalamo-hypophysären Tractus blockiert. Diese Dissoziation ist nicht gesichert. Allerdings ist bei Acetylcholindosen, die etwa gleich große Volumendefizite wie Pilocarpin hervorrufen, ein arterieller Blutdruckabfall nicht auszuschließen. Auch unter Alkoholnarkose führt Acetylcholin nicht regelmäßig wie Pilocarpin zu einem Abfall des Volumendefizites. Dieser Befund kann auf den Blutdruckabfall durch Acetylcholin zurückgeführt werden. Nach TATA und BUZALKOV (1966) wird nämlich bei Alkoholnarkose die ADH-Ausschüttung zwar durch den osmotischen Stimulus, nicht aber durch einen Blutdruckabfall blockiert. Umgekehrt ist dieser Befund als ein weiterer Beweis für die geringen Wirkungen von Pilocarpin auf den Blutdruck zu werten.

Komplizierend ist auch die Tatsache, daß die Reihenfolge der Versuche von ausschlaggebender Bedeutung sein kann. So kommt man zu ganz unterschiedlichen Schlüssen, je nachdem, ob die Alkoholnarkose mit der Pilocarpin- oder der Acetylcholininjektion begonnen wird. Die Dissoziation bedarf deswegen weiterer Überprüfung.

4. Die osmotische Mehrausscheidung während der antidiuretischen Phase geht mit einer Verringerung des Volumendefizites einher.

Es lag nahe, die natriuretische Wirkung der Parasympathikomimetika (PINTER and MORCHOE 1963; VANDER 1964) auch für die osmoti-

sche Mehrausscheidung und die Abschwächung der Antidiuresen verantwortlich zu machen. Auf Grund der erwähnten drei Versuche mit starkem biphasischem Diureseverlauf bei gleichzeitiger Natriurese erscheint es möglich, daß ein hemmender Einfluß auf die ADH-Wirksamkeit bestehen kann. Gegen diese Annahme sprechen allerdings diejenigen Versuche, bei denen die Natriurese bei konstanter osmotischer Ausscheidung kompensiert werden konnte.

Im wesentlichen ist also eine Abschwächung des Volumendefizites mit einer osmotischen Mehrausscheidung verbunden. Des weiteren ist diese Mehrausscheidung auch signifikant mit dem Ausbleiben des Volumendefizites korreliert. Dieses wiederum ist jedoch an eine positive Wasserbilanz gebunden, so daß also die osmotische Mehrausscheidung insbesondere bei hohen Infusionsraten und gleichzeitig niedriger Ausgangsdiurese stattfindet. Es ist schwierig, bei diesen Beobachtungen Ursache und Wirkung streng voneinander zu trennen. Möglicherweise handelt es sich bei der osmotischen Mehrausscheidung um einen sekundären Effekt, der infolge der Plasmaexpansion zustande kommt. KESSLER hat ähnliche Beobachtungen für die Natriumausscheidung bei geringsten Plasmaexpansionen gemacht (1965). Bei den langdauernden Urinproben ist natürlich nicht zu erfassen, ob nicht auch in diesen Versuchen die Natriurese im Vordergrund gestanden hat. Es wären daher spezifische Versuchsmodifikationen für eine weitere Untersuchung wünschenswert.

6. Zusammenfassung

1. 180-220 g schwere Ratten mit Dauerkathetern werden intraduodenal mit verschiedenen Infusionsraten (4.5 - 12.0 ml H_2O/h) hydriert. Die Diurese wird fortlaufend registriert.

2. Nach intracavaler Injektion von Pilocarpin (0.1 - 1.0 mg) und Acetylcholin (10-100 µg) entsteht eine dosisabhängige Antidiurese, die typisch für exogene ADH-Zufuhr entsprechender Größe ist.

3. Unter Alkoholnarkose können die antidiuretischen Reaktionen teilweise oder vollständig unterdrückt werden. Eine Dissoziation zwischen Pilocarpin- und Acetylcholinwirkung läßt sich nicht sichern.

4. Die osmotische Diurese (6.0 ml 10%ig Mannitol) wird durch Parasympathikomimetika nicht beeinflußt.

5. Bei wiederholten Injektionen zeigt sich eine Refraktärität des Auslösungsmechanismus.

6. Diese Befunde sprechen für eine antidiuretische Reaktion, die durch eine provozierte ADH-Freisetzung hervorgerufen worden ist.

7. Die Antidiurese, gemessen am Volumendefizit ΔV_u, verhält sich proportional zur Ausgangsdiurese und, im Falle gleichbleibender Ausgangsdiurese, umgekehrt proportional zur Hydrierungsrate. Im Extremfall (hohe Infusionsrate, kleine Ausgangsdiurese) kann die antidiuretische Reaktion ausbleiben.

8. Es kann angenommen werden, daß die durch den gleichen Stimulus freisetzbare ADH-Menge wesentlich vom Hydrierungszustand und der Wasserbilanz beeinflußt wird. Damit gelingt es dem Organismus nicht nur durch Veränderungen der ADH-Empfindlichkeit sondern auch durch Veränderungen der Bereitschaft zur ADH-Freisetzung den Wasserhaushalt empfindlich feinzuregulieren.

9. Ein Anstieg der osmotischen Ausscheidung während der Antidiurese gegenüber den Ausgangswerten ist bei gleicher Ausgangsdiurese mit einem Abfall des Volumendefizites verbunden.

Literaturverzeichnis

AMES, R.G. and H.B. VAN DYKE

Antidiuretic hormone in the serum or plasma of rats
Endocrinology 50, 350-360 (1952)

AZIZ, O., F.J. HABERICH und P.E. NOWACKI

Technik der Dauerkatheterisierung der V.portae und V. cava caudalis an der wachen Ratte

Naturwissenschaften 51, 557 (1964)

AZIZ, O.

Habilitationsschrift 1969, F.U. Berlin

BARGMANN, W.

Über die neurosekretorische Verknüpfung von Hypothalamus und Neurohypophyse

Z. Zellforsch. 34, 610-634 (1949)

BOWMAN, W.C., M.J. RAND and G.B. WEST

Textbook of Pharmakology

Blackwell Scientific Publications,
Oxford and Edinburgh 1968

DICKER, S.E.

A method for the assay of very small amounts of antidiuretic activity with a note an the antidiuretic titre of rats blood

J. Physicl. 122, 149-157 (1953)

DRILL,G.

Pharmakology in Medicine

Ed. by J.R. DI PALMA, McGRAW HILL BOOK COMPANY,
New-York-Toronto-Sydney-London 1968

VAN DYKE, H.B. and R.G. AMES

Alcohol diuresis

Acta endocrin. 7, 110-121 (1951)

EICHNER, D.

Zur Morphologie des neurosekretorischen hypothalamisch-hypophysären Systems beim Goldhamster (Cricetus auratus) unter normalen und experimentellen Bedingungen

Z. Zellforsch. 40, 151-161 (1964)

EGGLETON, G.

The diuretic action of alcohol in man

J. Physiol. 101, 172-191 (1942)

FUJITA, H. and F.J. HARTMANN

Electron microscopy of neurohypophysis in normal, adrenaline-treated and pilocarpine-treated rabbits

Z. Zellforsch. 54, 734 (1961)

GAUER, O.H. and P.S. TATA

Vasopressin studies in the rat.
II. The amount of water reabsorbed by the rat kidney after a single i.v. injection of vasopressin: the vasopressin water equivalent

Pflügers Arch. ges. Physiol. 290, 286-293 (1966)

GINSBURG, M. and H. HELLER

The antidiuretic assay of vasopressin by intravenous injection into unanaesthetised rats

J. Endocrin 9, 267-273 (1953)

HABERICH, F.J., O.AZIZ und P.E. NOWACKI

Über einen osmorezeptorisch tätigen Mechanismus in der Leber

Pflügers Arch. ges. Physiol. 285, 73 (1965)

HELLER, H.

The hormonal control of water and salt-electrolyte metabolism with special reference to higher vertebrates

Mem. Soc. Endocrinol. 5, 25-37 (1956)

KESSLER, E., W.P. NELSON III and C.L. ROSANO

Urinary electrolytes at low rats of urine flow after expansion of extracellular volume

J. Lab. Clin. Med. 65, 804-816 (1965)

KÜSTERMANN, G.und F.J. HABERICH

Gibt es eine Rhythmik der Urinsekretion mit kurzer Periodendauer?

Pflügers Arch. ges. Physiol. 289, R 90 (1966)

LEDERIS, K.

Ultrastructural and biological evidence for the presence and likely function of acetylcholine in the hypothalamo-neurohypophysial system

in Neurosecretion by F. Stutinsky (Springer-Verlag) 1967

LEDERIS, K.
An electron-microscopical study of the human neurohypophysis
Z. Zellforsch. 65, 847-868 (1965)

MORAN, W.H., W.A. SHUAYB and B. ZIMMERMANN
The relationsship of antidiuretic hormone secretion to surgical stress
Surgery 56, 99-108 (1964)

ORTMANN, R.
Über experimentelle Veränderungen der Morphologie des Hypophysenzwischenhirnsystems und die Beziehung der sog. "Gomorisubstanz" zum Adiuretin
Z. Zellforsch. 36, 92-140 (1951)

PICKFORD, M.
The inhibitory effect of acetylcholine on water diuresis in the dog and its pituitary transmission
J. Physiol. 95 226-238 (1939)

PINTER, G.G. and C.C. O'MORCHOE
Effect of acetylcholine an renal function
Fed. Proceedings 22, 218 (1963)

DE ROBERTIS, E.
Ultrastructure and function in some neurosecretory system
in Neurosecretion by H. Heller and R.B.Clärk, Academic Press London-New York 1962

DE ROBERTIS, E.
Histophysiology of synapses and neurosecretion
Pergamon Press, Oxford-London-Edinburgh-New York-Paris-Frankfurt, 1964

SACHS, H.
Cellular processes concerned with vasopressin biosynthesis, storage and release
in Neurosecretion by F. Stutinsky, Springer-Verlag 1967

TATA, P.S. and R. BUZALKOV

Vasopressin studies in the rat.
III. Inability of ethanol anesthesia to prevent ADH secretion due to pain and hemorrhage

Pflügers Arch. ges. Physiol. 290, 294 (1966)

THORN, N.A.

In vitro studies of the release mechanism for vasopressin in rats

Acta endocr. 53, 644-654 (1966)

VANDER, A.J.

Effects of acetylcholine, atropine and physostigmine on renal function in the dog

Am. J. Physiol. 206, 492-498 (1964)

VERNEY, E.B.

The antidiuretic hormone and the factors which determine its release

Proc. Roy. Soc. B. 135, 27-106 (1947)

VOGEL, H.P., O. AZIZ und F.J. HABERICH

Das Vasopressin-Wasser-Äquivalent unter verschiedenen Ausgangsbedingungen an der wachen Ratte

Pflügers Arch. ges. Physiol. 307, 79 (1969)

Herrn Professor Dr. med. F.J. Haberich und
Herrn Professor Dr. med. O. Aziz
möchte ich für die Aufnahme als Doktorand
und für die wertvollen Ratschläge ganz
besonders danken.

Lebenslauf

Am 3. April 1945 wurde ich als Sohn des Orthopädiemechanikermeisters Fritz Niethard und seiner Ehefrau Ursula Niethard, geb. Christoph, in Aurach (Bayern) geboren.

Nach dem Umzug der Familie nach Niedersachsen besuchte ich von 1951 bis 1955 die Volksschule in Salzgitter-Bad und bis 1958 das Gymnasium desselben Ortes. Meine Schulzeit beendete ich auf dem Gymnasium Salzgitter-Lebenstedt, wo ich im Februar 1964 das Abitur des neusprachlichen Zweiges bestand.

Im Sommersemester 1964 begann ich das Studium der Medizin an der Freien Universität Berlin. Im Frühjahr 1965 bestand ich dort das Vorphysikum und im Herbst 1966 das Physikum.

Das zweite klinische Semester verbrachte ich an der Universität Göttingen. Nach der Rückkehr an die Freie Universität Berlin begann ich mit der Arbeit als Doktorand des physiologischen Institutes. Über Teilergebnisse der vorliegenden Arbeit konnte ich im Frühjahr 1969 auf dem Kongreß der Deutschen Physiologischen Gesellschaft berichten.

Am 18. Februar 1970 habe ich das medizinische Staatsexamen abgelegt.